

氏名	吉崎 舟洋		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 6 5 号		
学位授与年月日	令和2年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on Physiological Effects of Polymethoxyflavone on Photoaging and Its Molecular Mechanism (光老化に対するPolymethoxyflavoneの生理学的作用と作用機序に関する研究)		
主査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	丹羽 隆介
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	千葉 親文
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	稲垣 祐司

論 文 の 要 旨

本論文は、光老化に対する Polymethoxyflavone (PMF) の生理・薬理作用を明らかにするために、「光老化に対する Polymethoxyflavone の生理学的作用と作用機序に関する研究」を行い、その成果について述べている。

皮膚は壮年期以降、主に太陽光由来の Ultraviolet B (UVB) の暴露によるシミやシワ、タルミなどの変化を呈し、加齢による自然老化とは区別して特に光老化と呼ばれている。光老化の特徴であるシミは、表皮基底層のメラノサイトで生成されるメラニンの過剰沈着が原因である。またシワ、タルミは真皮層に豊富に含まれる Extracellular matrix (ECM) の変性、分解による力学的強度の低下が原因である。一方、植物に豊富に含まれるフラボン類は UVB による細胞への有害事象を予防改善することが知られており、皮膚への応用研究が試みられている。本論文において著者は、フラボノイドの類縁体 PMF に着目し、光老化に対する有用性を確かめるために、ECM 分解酵素の発現亢進やメラニン産生に対する作用や作用機序を明らかにすることを目的とした。

本論文の第一章で著者は、ECM 分解酵素発現及びメラニン産生を亢進する ProstaglandinE (PGE)₂ に着目し、PMF の抑制効果及びその作用機序を解析し、その成果について述べている。まず UVB 照射によりヒト不死表皮角化細胞株 HaCaT から分泌される PGE₂ 及びその律速酵素である Cyclooxygenase (COX)-2 の発現を PMF の事前処理により抑制出来ることを見出した。さらに著者は、PMF が Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) - γ に対して強いアゴニスト活性を有することを発見した。さらに著者は、PPAR- γ アンタゴニストを事前に処理すると、PMF による COX-2 の発現抑制が阻害されることも見出した。第一章で著者は、PMF は PPAR- γ の活性化を介して、UVB による COX-2 発現を抑制し、PGE₂ 産生を阻害することを明らかにした。

第二章で著者は、代表的な ECM 分解酵素である Matrix metalloproteinase (MMP)-1 に対する PMF の

作用を検討し、その成果について述べている。著者は、UVB 照射を受けた HaCaT が発現亢進する MMP-1 を mRNA 及びタンパク質レベルいずれにおいても PMF が抑制することを見出した。また著者は、c-Jun N-terminal kinase (JNK) の阻害剤 SP600125 が UVB 照射による MMP-1 の発現を PMF 同様に抑制することを明らかにした。さらに著者は、JNK 活性化の指標であるリン酸化が UVB 照射によって亢進され、それを PMF が抑制することも明らかにした。第二章で著者は、PMF は UVB による JNK リン酸化を阻害することで MMP-1 発現を抑制することを明らかにした。

第三章において著者は、メラニン生成に対する PMF の効果を調べ、その成果について述べている。著者は、ヒトメラノーマ細胞株 HM3K0 のメラニン生成を PMF が有意に阻害することを見出した。また著者は、酸性化した細胞小器官を蛍光標識法により観察し、PMF 処理により酸性化したメラノソームが顕著に増加する事実を明らかにした。さらに著者は、Tyrosinase のメラノソームへの局在が PMF により低下すること、メラノソームの pH の中和処理により、PMF による Tyrosinase のメラノソーム局在阻害やメラニン生成の低下が回復することを明らかにした。第三章で著者は、PMF はメラノソーム酸性化を介して Tyrosinase の局在を阻害し、メラニン生成を抑制することを明らかにした。

本論文において著者は、PMF がシミの原因となる UVB によるメラニン沈着に対し、PGE₂ 産生を抑制することでメラノサイトの活性化を抑えるとともに、メラノサイトに直接的に働きかけメラニン生成を抑制することを *in vitro* 評価により明らかにしたと述べている。またシワやタルミの原因となる UVB による ECM 分解促進に対しても、PGE₂ 産生を抑制することで ECM 分解酵素の発現亢進を抑制するとともに、表皮角化細胞の MMP-1 発現も直接的に抑制することを明らかにした。本研究により著者は、PMF が光老化の特徴であるシミ、シワ、タルミに対して、包括的に予防、改善するための有用な成分であることを見出したと結論している。また著者は、作用機序についても明らかにしたことで、今後、異なった作用機序を有する既存薬剤との併用による相乗効果や作用機序から予測される新たな生理活性の探索が可能となったと述べている。

審 査 の 要 旨

本論文は、光老化に対する Polymethoxyflavone (PMF) の生理・薬理作用に着目し、(1) UVB 照射によりヒト不死表皮角化細胞株 HaCaT から分泌誘導される PGE₂ と COX-2 の発現が PMF により抑制されること、(2) PMF が PGE₂ 産生阻害を介して炎症性細胞の浸潤を抑制するとともに、表皮角化細胞の MMP-1 発現も抑制すること、(3) PMF はメラノソーム酸性化を介して Tyrosinase の局在を阻害し、メラニン生成を阻害することなどを明らかにした。これらの研究成果は、UVB による皮膚のシミ、シワ、タルミなどの光老化現象に対する PMF の生理作用および作用機序を明らかにしたもので、学術的にも大きな意義があるばかりでなく、新たな薬剤や機能性食品、化粧品などの開発の道を拓くもので、その功績は大きい。

令和 2 年 1 月 27 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。